

Elza Freiberga (Kuzņecova)

ORCID 0000-0002-6855-6414

Krūts vēža molekulārajiem
apakštipiem raksturīga
gēnu ekspresija

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes tai skaitā farmācija

Apakšnozare – medicīniskā ģenētika

Promocijas darbs izstrādāts Onkoloģijas un molekulārās ģenētikas institūtā,
Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijā

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. profesore **Zanda Daneberga**,
Onkoloģijas un molekulārās ģenētikas institūts, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
Dr. biol. asociētā profesore **Miki Nakazawa-Miklaševiča**,
Onkoloģijas un molekulārās ģenētikas institūts, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Zinātniskais konsultants:

Dr. biol. profesors **Edvīns Miklaševičs**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. biol. tenūrprofesore **Dace Pjanova**,
Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
PhD profesore **Sonata Jarmalaite**,
Viļņas Universitāte, Lietuva
MD asociētais profesors **Jānis Eglītis**,
Latvijas Universitāte

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Medicīnas bāzes zinātņu, tai skaitā farmācijas promocijas padomes atklātajā sēdē 2026. gada 11. maijā plkst. 14.00 Hipokrāta auditorijā, Dzirciema ielā 16, Rīgas Stradiņa universitātē.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. asociētā profesore **Anna Miskova**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi	4
Ievads	5
Darba mērķis.....	6
Darba uzdevumi.....	6
Disertācijas hipotēze.....	6
Disertācijas novitāte	7
1. Materiāli un metodes.....	8
2. Rezultāti	10
2.1. TNBC pret ne-TNBC molekulārais profils.....	10
2.1.1. Pētījuma grupu klīniskās un patoloģiskās īpašības	10
2.1.2. Transkriptoma analīze	10
2.1.3. Gēnu ontoloģijas bagātināšanas analīze.....	10
2.1.4. PPI tīkla analīze un centra gēnu noteikšana	11
2.2. <i>BRC1</i> monoalēliskais somatiskās inaktivācijas molekulārais profils.....	13
2.2.1. Pētījuma grupu klīniskās un patoloģiskās īpašības	13
2.2.2. Diferenciāli ekspresētie gēni	14
Secinājumi.....	16
Priekšlikumi	17
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu	18
Literatūras un avotu saraksts	19
Pateicības.....	25

Darbā izmantotie saīsinājumi

AR	Androgēna receptors
<i>BRCA1</i>	Ar BRCA1 DNS reparāciju saistītais
<i>BRCA2</i>	Ar BRCA2 DNS reparāciju saistītais
<i>CARTPT</i>	CART prepropeptīda kodējošais gēns
CGA	Glikoproteīna hormons, alfa polipeptīds
CHGB	Hromatogranīns B
CI	Ticamības intervāls
<i>COL9A1</i>	Kolagēna tipa IX alfa 1 ķēdes kodējošais gēns
<i>CSN3</i>	Kazeīna kapa kodējošais gēns
DEG	Diferenciāli ekspresēti gēni
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe
ECM	Ekstracelulārais matrikss
ER	Estrogēnu receptors
<i>FABP4</i>	Taukskābju saistošā proteīna 4 kodējošais gēns
<i>FOXA1</i>	<i>Forkhead Box A1</i> kodējošais gēns
<i>GATA3</i>	GATA saistītājproteīna 3 kodējošais gēns
<i>GPX2</i>	Glutaciona peroksidāzi 2 kodējošais gēns
HER2	Cilvēka epidermālā augšanas faktora receptors 2
HR	Homologā rekombinācija
<i>IRS4</i>	Insulīna receptora substrāta 4 kodējošais gēns
MMP9	Matriksa metaloproteināze 9
mRNS	Matrices RNS
<i>ORM1</i>	Orosomukoīda 1 kodējošais gēns
PARP	<i>poly (ADP-ribose)</i> polimerāze
PPI	Proteīnu–proteīnu mijiedarbība
PR	Progesterona receptors
RNS	Ribonukleīnskābe
<i>SLC39A6</i>	Cinka transportieris ZIP6 kodējošs gēns
STRING	Meklēšanas rīks mijiedarbošos gēnu/proteīnu atgūšanai
TFF1	Trefoila faktors 1
TFF3	Trefoila faktors 3
TNBC	Trīskārši negatīvs krūts audzējs
<i>TPSD1</i>	Triptāze delta 1 kodējošais gēns
TSH	Vairogdziedzera atbrīvotāj hormons

Ievads

Krūts vēzis ir visbiežāk diagnosticētais ļaundabīgais audzējs sievietes vidū visā pasaulē, kas veido gandrīz 1 no 4 vēža gadījumiem sievietēm un rada būtiskas sabiedrības veselības problēmas. 2022. gadā bija 2,3 miljoni jaunu sievietes krūts vēža gadījumu, padarot to par otro vadošo vēzi pasaulē (11,6 % no visiem jaunajiem vēža gadījumiem), un aptuveni 666 000 nāves gadījumu, ierindojoš to par ceturto galveno vēža mirstības cēloni (6,9 % no visiem vēža nāves gadījumiem) (Arnold et al., 2022; Bray et al., 2018). Lai gan saslimstības rādītāji pieaug, mirstība no krūts vēža pakāpeniski samazinās, jo uzlabojas agrīna diagnostika un terapeitiskā ārstēšana (Kesson et al., 2012).

Trīskārši negatīvs krūts vēža (TNBC) molekulārais apakštips veido aptuveni 15–20 % no visiem krūts vēža gadījumiem, kam raksturīgs estrogēna receptora (ER), progesterona receptora (PR) un cilvēka epidermālā augšanas faktora receptora 2 (HER2) ekspresijas trūkums, un tas rada īpašas bažas tā agresīvās klīniskās uzvedības un sliktās prognozes dēļ (Garrido-Castro et al., 2019; Shen et al., 2020). Pārsvārā TNBC skar jaunākas sievietes un ir saistīta ar augstāku recidīvu skaitu un lielāku metastāžu iespējamību (Dent et al., 2007; Haffty et al., 2006). Lai gan lielākajai daļai TNBC pacientu nav pieejamas uz hormonu receptoriem vai HER2 vērsta terapijas iespējas un ārstēšana balstās uz ķīmijterapiju, daļa TNBC gadījumu ir saistīti ar iedzimtu krūts un olnīcu vēzi (*HBOC*) un var gūt labumu no mērķterapijas, uzsverot nepieciešamību pēc precīzākas stratifikācijas un prognozējošiem biomarkšiem (Hwang et al., 2019).

Papildus TNBC izaicinājumiem ārstēšanā krūts vēzis ir heterogēna slimība, kuras attīstību nosaka gan ģenētiskie, gan vides faktori. Visbiežāk sastopamie ģenētiskie faktori ir *BRCA1* un *BRCA2* gēni, kuriem ir svarīga loma genoma integritātē, izmantojot homologās rekombinācijas (HR) mediētu DNS labošanu. Šo gēnu funkciju zudums traucē HR ceļus, kas noved pie genoma nestabilitātes un audzēja progresēšanas (Prakash et al., 2015). Tas var notikt vai nu funkciju zuduma dēļ, vai arī tā var būt iedzimta mutācija vai somatiskās izmaiņas audzēja šūnās (Loboda et al., 2023). Ir zināms, ka *BRCA1* somatiskā inaktivācija ir saistīta ar atšķirīgiem molekulāriem tipiem, kas ietver genoma pārkārtošanos un specifiskus mutāciju parakstus. Šos parakstus sauc par “BRCAness”, kas pazīstami arī kā prognozējoši biomarkšiem terapeitiskai reakcijai uz platīna bāzes ķīmijterapijām un PARP inhibitoriem, uzsverot tā klīnisko nozīmi ārstēšanas lēmumu pieņemšanā (Bodily et al., 2020).

Augstas caurlaidības tehnoloģiju, piemēram, RNS sekvencēšanas, attīstība ir ļāvusi zinātniekiem aplūkot krūts vēža transkriptomiskos profilus un molekulāro ainu (Chen et al., 2021; Hong et al., 2020; Rosati et al., 2024). Tas ļauj identificēt diferencēti ekspresētus gēnus un to ietekmētos ceļus konkrētos vēža apakštipos, ieskaitot TNBC. Jaunākajos pētījumos

aprstīts TNBC molekulārais neviendabīgums, izceļot specifiskus onkogēnus un novērtējot audzēja mikrovidi (Kudelova et al., 2022; Shah et al., 2012). Transkriptomika novērtē arī somatisko *BRCAl* inaktivācijas ietekmi, tādējādi cenšoties noskaidrot lomu audzēja bioloģijā un terapijas efektivitātē (Arakelyan et al., 2021).

Šajā disertācijā ir iekļauti divu savstarpēji papildinošu pētījumu rezultāti. Pirmajā pētīts TNBC transkriptoms, centra gēni un izmainītie signālceļi, saistīti ar šo konkrēto krūts vēža apakštipu, kas var palīdzēt identificēt potenciālos biomarkierus un terapeitiskos mērķus. Pētījuma otrā daļa koncentrējas uz krūts vēzi ar monoalēlisku somatisko *BRCAl* inaktivāciju, kas rada arvien lielāku interesi, jo pat daļējs *BRCAl* funkcijas zudums var pasliktināt DNS atjaunošanos un ietekmēt audzēja uzvedību. Pārbaudot tā saistību ar beznotikuma periodu, šis pētījums sniedz ieskatu somatiskā *BRCAl* statusa prognostiskajā nozīmē. Kopā šie pētījumi palīdz uzlabot izpratni par molekulārajiem mehānismiem, kas veicina krūts vēža attīstību, un atvieglo personalizētu ārstēšanas stratēģiju uzlabošanu, kas savukārt uzlabo pacientu aprūpes rezultātus.

Darba mērķis

Raksturot gēnu ekspresijas profilus un izmainītos signālceļus, kas saistīti ar atšķirīgiem krūts vēža molekulārajiem apakštipiem (trīskāršs negatīvs krūts vēzis un krūts vēzis ar monoalēlisku somatisko *BRCAl* inaktivāciju), lai identificētu potenciālos biomarkierus un terapeitiskos mērķus un novērtētu to potenciālo klīnisko nozīmi.

Darba uzdevumi

1. Veikt RNS-seq, identificēt trīskārši negatīvu krūts vēža (TNBC) apakšgrupu un tās specifisko transkriptoma modeli.
2. Veikt funkcionālo bagātināšanu un proteīnu–proteīnu mijiedarbības analīzi TNBC.
3. Veikt RNS-seq, identificēt audzēju transkriptomisko modeli ar monoalēlisku somatisko *BRCAl* inaktivāciju.
4. Veikt funkcionālās bagātināšanas un proteīnu–proteīnu mijiedarbības analīzes *BRCAl* monoalēliskās inaktivācijas grupā.
5. Analizēt dzīvildzi grupā ar *BRCAl* monoalēlisko inaktivāciju.

Disertācijas hipotēze

Atšķirīgi transkriptomiskie paraksti krūts vēža molekulārajās apakšgrupās var kalpot kā prognozējoši biomarkieri, kas ļauj personalizēt terapeitiskās stratēģijas.

Disertācijas novītāte

Gēnu ekspresijas izmaiņu identificēšana TNBC un krūts vēža gadījumos ar *BRCA1* saistītiem homoloģiem rekombinācijas traucējumiem sniedz ieskatu audzēja bioloģijā un var atklāt biomarķierus, kas attiecas uz pacientu stratifikāciju un personalizētām terapeitiskām pieejām.

1. Materiāli un metodes

Izpētes grupa

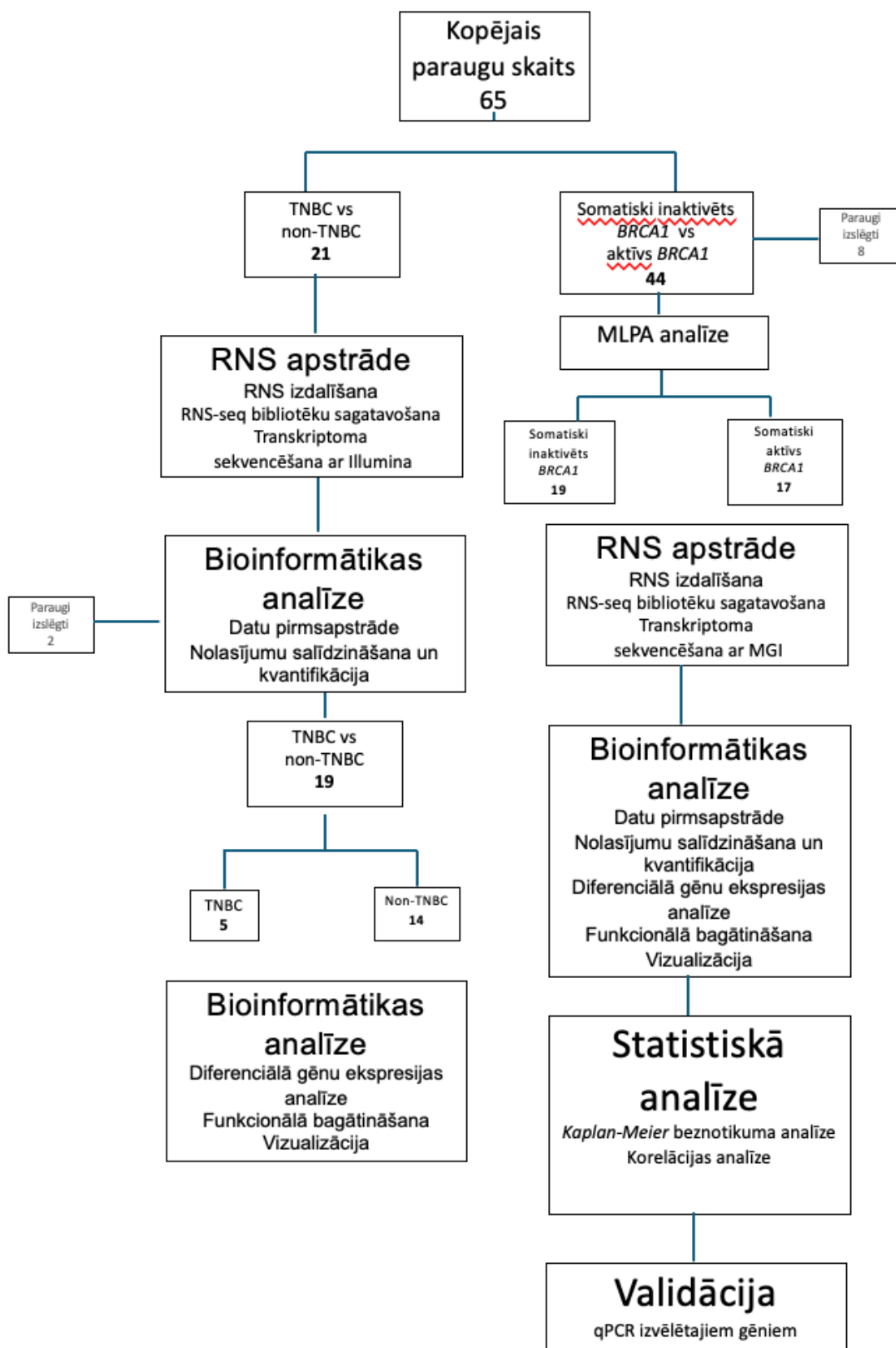
Kopumā no Rīgas Stradiņa universitātes Onkoloģijas institūta (RSU IO) audu krātuves tika savākti 65 svaigi saldēti krūts vēža paraugi, kas iegūti no 2012. līdz 2017. gadam diagnosticētām un ķirurģiski ārstētām pacientēm. Pētījuma dizains un analītiskā darbplūsma parādīta 1.1. attēlā. Desmit pacienti tika izslēgti no analīzes iepriekš noteiktu izslēgšanas kritēriju dēļ, tostarp iedzimtas *BRCA1* mutāciju klātbūtnes dēļ, neapstiprinātas histopatoloģiskās diagnozes un nepietiekamas sekvencēšanas kvalitātes dēļ. Atlikušajām 55 pacientēm bija histoloģiski apstiprināta krūts vēža diagnoze, un pirms operācijas viņas nebija saņēmušas neoadjuvantu ķīmijterapiju, hormonu terapiju vai staru terapiju. Klīniskie dati, tostarp vecums diagnozes noteikšanas brīdī, terapeitiskās iejaukšanās un dzīvildzes rezultāti, bija pieejami medicīniskajās kartītēs.

Pēc operācijas lielākā daļa pacientu saņēma adjuvantu ķīmijterapiju ar vai bez hormonu terapijas (ieskaitot trastuzumabu/Herceptin) un/vai staru terapiju. Dažos gadījumos pacienti saņēma hormonu terapiju vai staru terapiju atsevišķi vai kombinācijā.

Iegūtie vēža paraugi tika izmantoti divām galvenajām šī darba pētījuma sastāvdaļām:

1. TNBC transkriptoma profilēšana – mērķis ir identificēt diferenciāli ekspresētus gēnus un izmaiņas signālceļos, kas saistīti ar trīskāršu negatīvu krūts vēzi pret trīskāršu negatīvu krūts vēzi (n = 19).

2. Transkriptoma profilēšana audzējiem ar monoalēlisku somatisko *BRCA1* inaktivāciju salīdzinājumā ar audzējiem ar abām aktīvām *BRCA1* alēlēm, ieskaitot Kaplana-Meiera dzīvildzes analīzi, lai novērtētu *BRCA1* statusa ietekmi uz dzīvildzi bez notikumiem (n = 36).



1.1. attēls. Pētījuma dizains un analītiskā darbplūsma

2. Rezultāti

Šī darba izpēte sastāv no divām daļām. Pirmā daļa ir vērsta uz transkriptoma analīzi ar mērķi atklāt diferenciāli ekspresētus gēnus (DEG) starp trīskārši negatīvu krūts vēža (TNBC) grupu un ne-TNBC grupu. Otrajā daļā tika pārbaudīti DEG pacientu paraugos ar somatisko monoalēlisko *BRCA1* inaktivāciju, salīdzinot ar tiem, kuriem bija abas aktīvās *BRCA1* alēles.

2.1. TNBC pret ne-TNBC molekulārais profils

2.1.1. Pētījuma grupu klīniskās un patoloģiskās īpašības

TNBC pētījuma kohortas klīniskās un patoloģiskās īpašības ($n = 19$) tika analizētas pēc stratifikācijas TNBC ($n = 5$) un ne-TNBC ($n = 14$) grupās, pamatojoties uz iegūtajiem RNS-seq datiem. Vidējais vecums TNBC grupā (52 gadi) bija zemāks, salīdzinot ar ne-TNBC grupu (65,5 gadi), lai gan šī atšķirība nerasniedza statistisku nozīmīgumu. Būtiskas atšķirības starp grupām netika konstatētas attiecībā uz audzēja (T) stadiju, mezglu (N) statusu vai vispārējo klīnisko stadiju. Lielākā daļa audzēju abās grupās tika klasificēti kā T2 un klīniski stadijas I vai II. Molekulārā apakštīpa sadalījums atspoguļoja gaidāmo bioloģiju: lumināli un HER2 pozitīvi audzēji tika novēroti tikai ne-TNBC grupā, bet TNBC grupā bija tikai trīskārši negatīvi gadījumi. Adjuvantu ārstēšanas modeļi, ieskaitot ķīmijterapiju, endokrīno terapiju un staru terapiju, bija salīdzināmi starp grupām. Trastuzumaba terapija tika ievadīta tikai HER2 pozitīvos gadījumos, kas nav TNBC, kā paredzēts. Kopējā dzīvildze TNBC apakšgrupā pēdējā novērošanā 2025. gadā bija zemāka, bet nebija statistiski nozīmīga.

2.1.2. Transkriptoma analīze

Pētījums ietvēra 19 paraugu sekvencēšanu, iegūstot vidējo Q30 kvalitātes rādītāju 85,4 % un vidējo lasījumu skaitu 40 miljoni vienā paraugā. TNBC paraugu sekvencēšanas dziļums bija aptuveni $300\times$. Pamatojoties uz globālo transkriptoma analīzi, paraugi tika iedalīti divās atšķirīgās grupās: TNBC grupā, kas sastāvēja no 5 paraugiem ar zemu vai neidentificētu ER, PR un HER2 gēnu transkriptiem, un ne-TNBC grupā, kas sastāv no atlikušajiem 14 paraugiem. Sekvencēšanas rezultāti identificēja kopumā 53,854 (DEG). Pēc Bonferroni korekcijas ($p < 0,05$) piemērošanas 229 DEG bija statistiski nozīmīgi, tostarp 124 gēni, kas tika samazināti, un 105 gēni, kas tika paaugstināti regulēti TNBC grupā.

2.1.3. Gēnu ontoloģijas bagātināšanas analīze

Gēnu ontoloģijas bagātināšanas analīze 42 gēniem ar paaugstinātu ekspresiju atklāja nozīmīgas asociācijas starp molekulāro funkciju, bioloģisko procesu un šūnu komponentu kategorijām. Bioloģisko procesu grupā skeleta sistēmas attīstībā tika bagātināti 13 gēni, tostarp *GDF*, *MYF5*, *COL9A1*, *COL11A2*, *COL19A1*, *DLK1*, *EXTL1*, *ZIC1*, *ALX1*, *NCAN*, *DLX6*,

MMP9 un *ENI* ($p = 2,06 \times 10^{-7}$). 10 gēnu kopums (*COL9A1*, *MYF5*, *COL11A2*, *COL19A1*, *COL5A3*, *NCAN*, *LOXL4*, *LOXL3*, *MMP9*, *MIA*) uzrādīja spēcīgu ekstracelulārās matricas un kolagēna organizācijas bagātināšanu ($p = 4 \times 10^{-6}$), savukārt *CDI63*, *LOXL4*, *LOXL3* un *MARCO* bija saistīti ar makrofāgu receptoru un endocitozes receptoru aktivitāti ($p < 1 \times 10^{-4}$). Molekulāro funkciju līmenī tika novērota ekstracelulārās matricas strukturālo sastāvdaļu bagātināšana, kas piešķir stiepes izturību un proteīna lizīna oksidāzes aktivitāti, ko lielā mērā noteica kolagēna un *LOXL* ģimenes locekļi. Šūnu komponentu kategorijā nozīmīgākie termini bija kolagēna trimērs (*COL11A2*, *COL19A1*, *COL5A3*, *CIQL2*, *CIQL4*, *FCN1*, *MARCO*; $p = 1,23 \times 10^{-9}$) un kolagēnu saturoša ekstracelulārā matrica ($p = 1,64 \times 10^{-5}$).

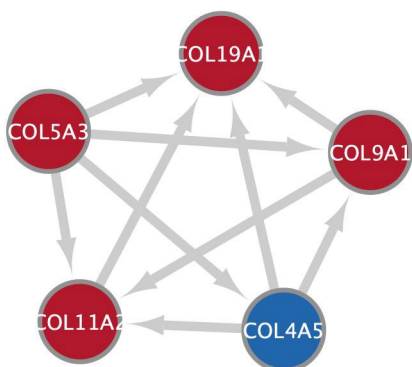
Turpretī 11 gēni ar pazeminātu ekspresiju (*ABCC8*, *KCNJ11*, *SHROOM3*, *RAB17*, *PDZK1*, *ABCC11*, *SHROOM1*, *P2RY2*, *RAB27B*, *GP2*, *TJP3*) uzrādīja bagātināšanu tikai šūnu komponentu kategorijās, ieskaitot uz iekšu vērstus kālija kanālus un plazmas membrānu.

2.1.4. PPI tīkla analīze un centra gēnu noteikšana

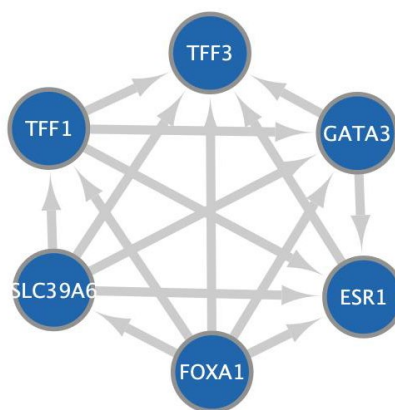
Lai pārbaudītu mijiedarbību starp proteīniem, ko kodē diferenciāli ekspresētie gēni (DEG), tika izveidots proteīnu–proteīnu mijiedarbības (PPI) tīkls, izmantojot datus no STRING datubāzes. Šis tīkls sastāvēja no 188 mezgliem un 182 malām. Pēc tam klasteru analīze identificēja trīs atšķirīgus funkcionālos moduļus tīklā. 1. modulis (2.1. attēls) ir bagātināts ar kolagēna un membrānas komponentiem, veidojot ciešu ekstracelulārās matricas mijiedarbības klasteri, kas atbilst strukturālajai pārveidošanai. Tās savienojamība liecina par koordinētu matricas organizācijas regulēšanu, kas var veicināt izmaiņas audu arhitektūrā, saistītu ar invāziju. 2. modulis (2.2. attēls) attēlo kanonisko lūminālo/estrogēnu receptoru regulēšanas ķēdi, kurā *ESR1* ir saistīts ar galvenajiem sadarbības transkripcijas faktoriem *GATA3* un *FOXA1* un lejupējiem lūminālajiem marķieriem (*TFF1/TFF3*, *SLC39A6*). Tās klātbūtne tīklā norāda uz *ER*/lūminālam līdzīgu programmu, kura uztverta datos, kas liecina par bioloģisko nevienādīgumu analizētajos paraugos. 3. modulis (2.3. attēls) satur divas savienotas apakšgrupas: ar audzēju saistīto virsmas proteīnu kopu (*MSLN*, *LY6K*, *GP2*, *LYPD6B*) un *MMP9* klasteri, kas ietver *MPO*, *HMOX1* un *CDI63*. Abas apakšgrupas ir savienotas ar *MSLN*, veidojot vienu moduli ar blīvāku mijiedarbības kodolu ap *MMP9* un *MSLN*.

Pēc tam tika atlasīti centra gēni, kā rezultātā tika identificēti astoņi galvenie centra gēni: *FOXA1*, *ESR1*, *TFF1*, *GATA3*, *TFF3*, *AR*, *SLC39A6* un *COL9A1* (2.4. attēls). Proti, septiņi no šiem centra gēniem (*FOXA1*, *ESR1*, *TFF1*, *GATA3*, *TFF3*, *ARI* un *SLC39A6*) uzrādīja samazinātu ekspresiju TNBC grupā, salīdzinot ar ne-TNBC grupu, savukārt *COL9A1* bija vienīgais gēns ar paaugstinātu ekspresiju TNBC grupā. Gēni tika sakārtoti pēc to nozīmes tīklā:

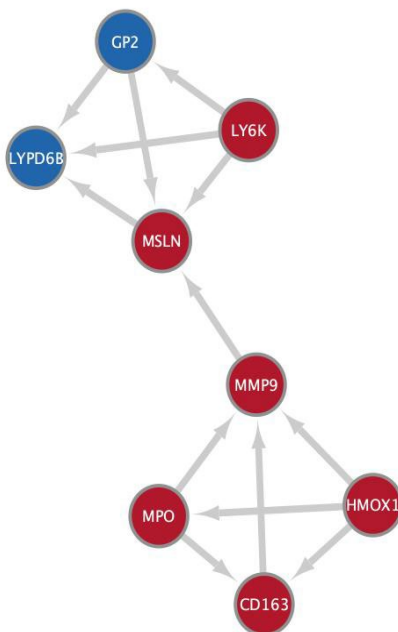
ESR1 bija visaugstāk novērtētais, kam sekoja *FOXA1* un *GATA3* dalītājā otrajā pozīcijā, *TFF1* un *TFF3* trešajā vietā, *SLC39A6* ceturtajā vietā un gan *COL9A1*, gan *AR* piektajā vietā.



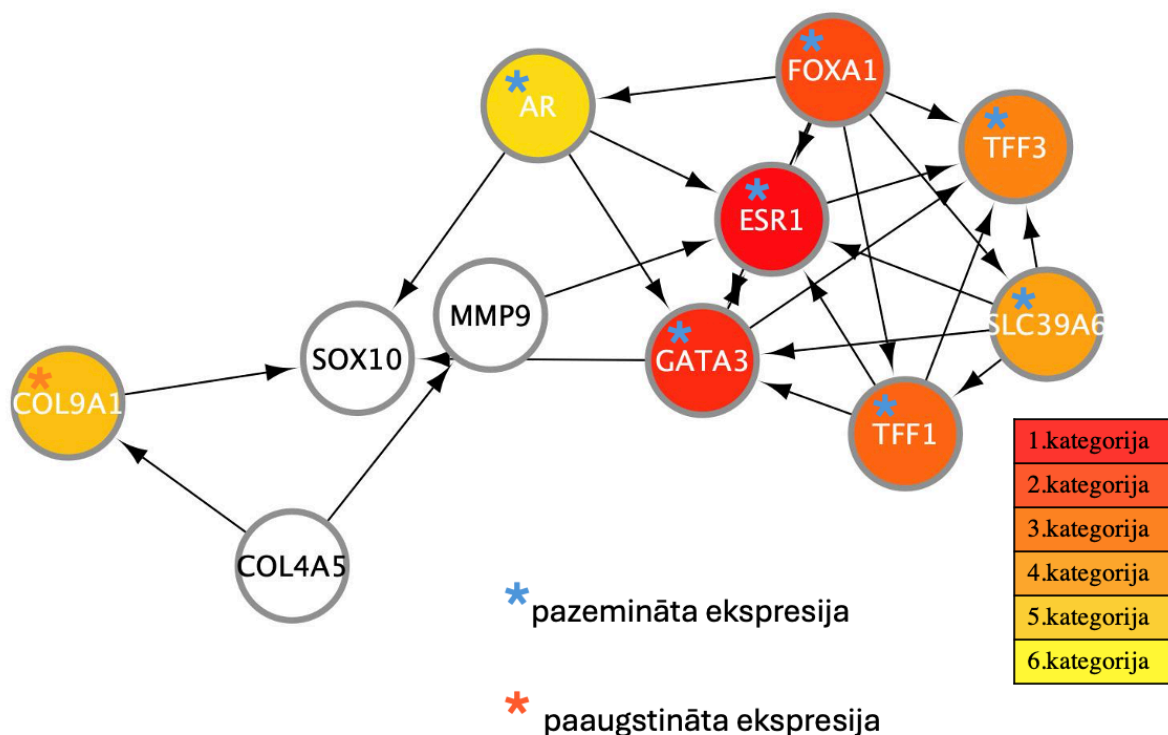
2.1. attēls. Nozīmīgais modulis 1, kas atlasīts no PPI tīkla, ieskaitot ģenus *COL5A3*, *COL19A1*, *COL9A1*, *COL5A5*, *COL11A2*



2.2. attēls. Nozīmīgais modulis 2, kas atlasīts no PPI tīkla, ieskaitot ģenus *TFF1*, *TFF3*, *GATA3*, *FOXA3*, *ESR1*, *SLC39A6*



2.3. attēls. Nozīmīgais modulis 3, kas atlasīts no PPI tīkla, ieskaitot ģenus *GP2*, *LY6K*, *MSLN*, *LYPD6B*, *MMP9*, *HMOX1*, *CD163*, *MPO*



2.4. attēls. 8 centra gēnu apakštīkls
(*ESR1*, *FOXA1*, *GATA3*, *TFF1*, *TFF3*, *SLC39A6*, *AR*, *COL9A1*)

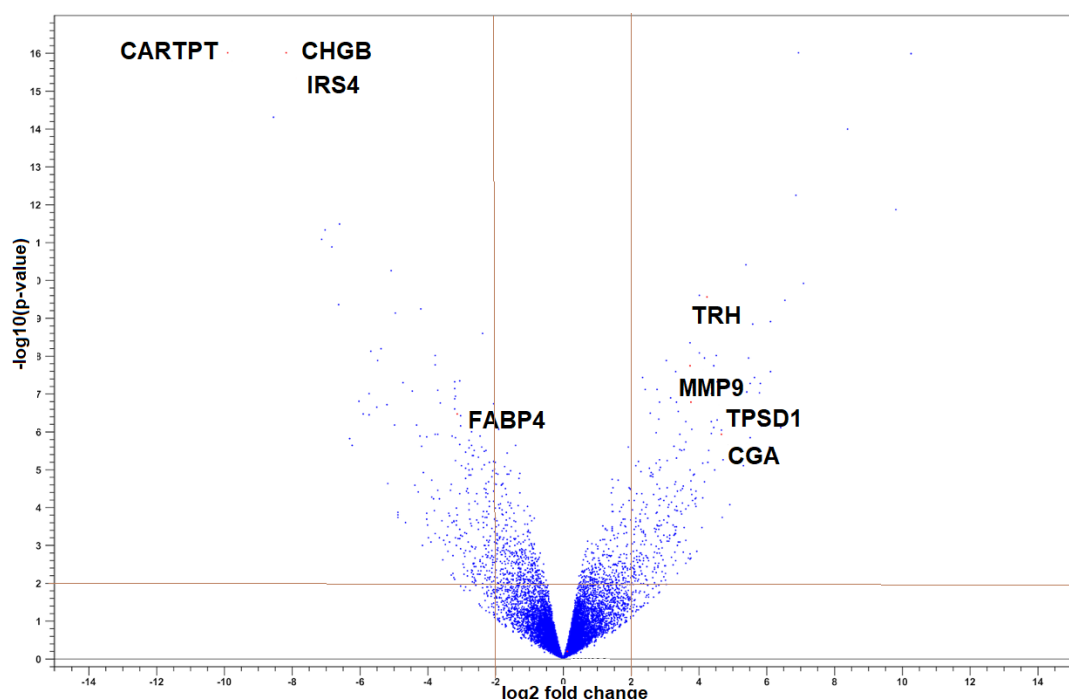
2.2. *BRCA1* monoalēliskais somatiskās inaktivācijas molekulārais profils

2.2.1. Pētījuma grupu klīniskās un patoloģiskās īpašības

36 audzēju paraugu kohorta tika iedalīta divās pētījuma grupās, pamatojoties uz *BRCA1* statusu, kas tika noteikts, izmantojot MLPA analīzi: ar monoalēlisku somatisko inaktivāciju un bez tās. Starp tiem 16 paraugiem *BRCA1* promotora reģionā bija monoalēliska delēcija, bet viens paraugs uzrādīja promotora hipermetilāciju. Atlikušie 19 paraugi neuzrādīja delēciju vai metilēšanu *BRCA1* promotora reģionā. Attiecīgi kohorta tika sadalīta divās grupās: *BRCA1*⁻, kas pārstāv gadījumus ar monoalēlisku somatisko inaktivāciju, un *BRCA1*⁺, kas pārstāv audzējus ar divām aktīvām *BRCA1* alēlēm. Pētījuma kohortas klīniskās un patoloģiskās īpašības (n = 36) tika analizētas pēc stratifikācijas *BRCA1*⁻ (n = 17) un *BRCA1*⁺ (n = 19) grupās. Vidējais vecums bija nedaudz lielāks *BRCA1*⁺ grupā (68 gadi), salīdzinot ar *BRCA1* grupu (58 gadi). Statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām netika novērotas attiecībā uz audzēja (T) vai mezgla (N) stadiju, klīnisko stadiju, histoloģisko pakāpi, Ki-67 proliferācijas indeksu vai molekulāro apakštīpu. Lielākā daļa audzēju tika klasificēti kā T2 stadija, 2. pakāpe un luminālais A vai luminālais B molekulārais tips. Attiecībā uz ārstēšanu abas grupas saņēma ķīmijterapiju, endokrīno terapiju un staru terapiju salīdzināmā biežumā, savukārt trastuzumabs tika ievadīts tikai *BRCA1* apakšgrupā.

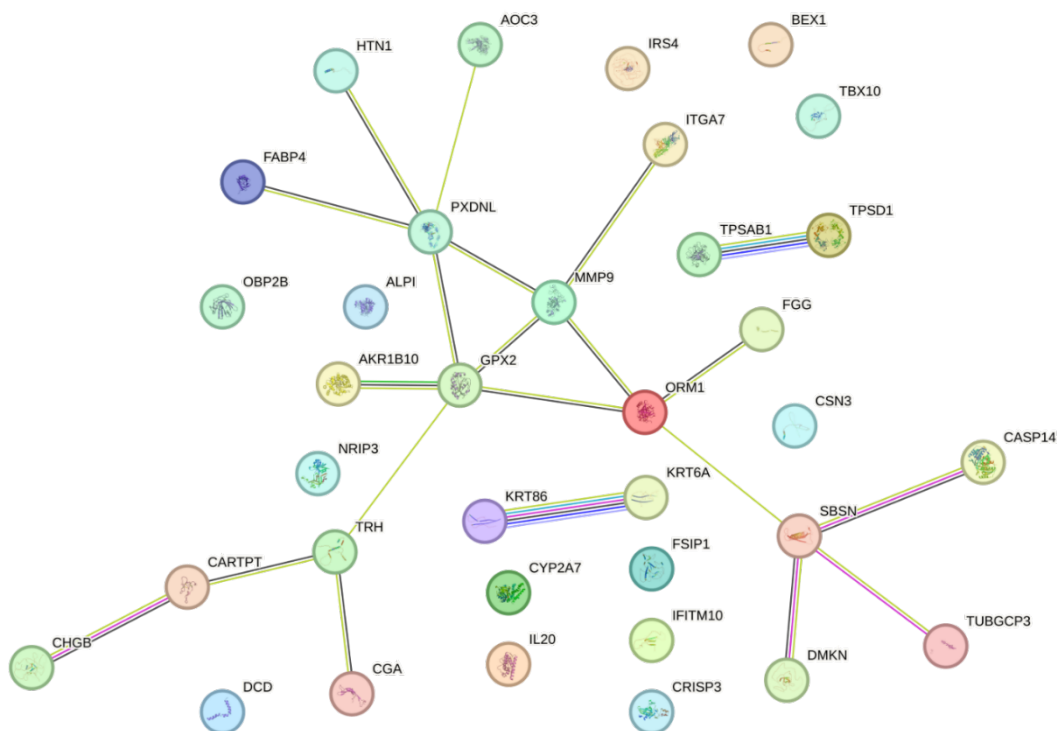
2.2.2. Diferenciāli ekspresētie gēni

RNS sekvenčēšanas (RNS-seq) datu analīze identificēja 39 diferenciāli ekspresētus gēnus (DEG) starp pētījuma grupām, kā atlasas kritērijus izmantojot Bonferroni korekciju $p < 0,05$ un maksimālo grupas vidējo > 10 . No tiem 23 gēni tika regulēti uz augšu un 16 tika regulēti *BRCA1* grupā. Jāatzīmē, ka, izņemot četrus transkriptus, visi identificētie DEG bija proteīnu kodējoši gēni. Atlikušie četri atbilda lncRNS vai rRNS. Vulkāna diagramma (2.5. attēls) parāda gēnu ekspresijas izmaiņu kopējo sadalījumu, ko attēlo log2 reizes izmaiņas. Starp transkriptiem ar paaugstinātu ekspresiju bija *TRH*, *MMP9*, *TPSD1* un *CGA*, savukārt *CARTPT*, *CHGB* un *IRS4* uzrādīja ievērojami pazeminātu ekspresiju.



2.5. attēls. Diferenciāli ekspresēto gēnu vulkāna diagramma starp *BRCA1*- un *BRCA+* grupām

Lai izpētītu funkcionālos savienojumus starp identificētajiem DEG kodētajiem proteīniem, mēs izmantojām STRING rīku (Szklarczyk et al., 2019). Izmantojot šo analīzi, ieguvām vērtīgu ieskatu molekulārajos ceļos un procesos, kas, iespējams, saistīti ar *BRCA1* gēna monoalēlisko somatisko inaktivāciju krūts vēža gadījumā, kā parādīts 2.6. attēlā. Pēc centra gēnu analīzes *MMP9* un *GPX2* tika identificēti kā centrālie tīkla gēni.



2.6. attēls. Proteīnu–proteīnu mijiedarbības (PPI) DEG tīkls *BRCA1* monoalēliskās inaktivācijas grupā

Gēnu ontoloģijas (GO) diferenciāli ekspresēto gēnu (DEG) šūnu komponentu analīze parādīja bagātināšanos ekstracelulārajā reģionā un ekstracelulārajā telpā. Šie termini uzrādīja vislielāko saistīto gēnu skaitu un zemāko viltus atklājumu īpatsvaru (*FDR*), kas liecina par spēcīgu ekstracelulāro proteīnu kodējošo gēnu pārmērīgu bagātināšanu. Bagātināšanas analīze, kas tika veikta, izmantojot STRING rīku, atklāja ievērojamu proteīnu bagātināšanu ekstracelulārajā reģionā (GO:0005576) un ekstracelulārajā telpā (GO:0005615). Ievērojami gēni, kas saistīti ar šīm kategorijām, ir *TPSD1*, *FABP4*, *ORM1*, *ALPI*, *CARTPT*, *TRH*, *CSN3* un *MMP9*. Turklāt vairogdziedzera slimības identificēšana kā bagātināta kategorija liecina par iespējamām saiknēm starp krūts vēzi un vairogdziedzera disfunkciju, ar bagātinātiem gēniem, piemēram, *TRH*, *IRS4*, *CHGB* un *CGA*, iespējams, veicinot mijiedarbību starp krūts vēzi un vairogdziedzera procesiem.

Secinājumi

1. RNS sekvencēšana identificēja 53 854 ekspresētus gēnus, no kuriem 229 diferenciāli ekspresēti starp TNBC un ne-TNBC audzējiem, definējot atšķirīgu ar TNBC saistītu transkriptomisko profilu, kas bagātināts ar ekstracelulāro matricu saistītiem ceļiem, ieskaitot kolagēna organizāciju un ekstracelulārās strukturālās funkcijas.
2. Gēnu ontoloģijas bagātināšana apstiprināja, ka ar TNBC saistītie DEG ir funkcionāli saistīti ar ekstracelulāro struktūru organizāciju un ECM integritāti. Proteīnu–proteīnu mijiedarbības analīze identificēja centra gēnus *FOXAI*, *ESR1*, *TFF1*, *GATA3*, *TFF3*, *AR*, *SLC39A6* un *COL9A1*, uzsverot to centrālo lomu audzēja mikrovides un endokrīnās signalizācijas ceļu regulēšanā.
3. Transkriptoma analīzē audzējiem ar monoalēlisku somatisko *BRCAl* inaktivāciju tika identificēti 39 diferenciāli ekspresēti gēni, kuri pārsvarā bagātināti ar ārpusšūnu reģionu saistītos procesos, kas norāda uz izmainītu audzēja un stromas mijiedarbību.
4. Audzēju funkcionālās bagātināšanas analīze ar monoalēlisko *BRCAl* inaktivāciju parādīja ievērojamu gēnu bagātināšanu ekstracelulāro reģionu kategorijās, tostarp *TPSD1*, *FABP4*, *ORM1*, *ALPI*, *CARTPT*, *TRH*, *CSN3* un *MMP9*. Proteīnu–proteīnu mijiedarbības analīze identificēja *GPX2* un *MMP9* kā centra gēnus, un *GPX2* konsekventi ierindojās visaugstākajā vietā abos algoritmos.
5. Kaplana-Meiera analīze norāda tendenci uz ilgāku beznotikuma periodu pacientiem ar monoalēlisku somatisku *BRCAl* inaktivāciju.

Priekšlikumi

Šī doktora darba rezultāti parāda transkriptomiskā profilēšanas vērtību krūts vēža molekulārās stratifikācijas uzlabošanā, īpaši klīniski sarežģītās apakšgrupās. Tiek ierosināts, ka turpmākie pētījumi apstiprina identificētos apakštipa specifiskos gēnu ekspresijas parakstus un centra gēnus lielākās, neatkarīgās kohortās, īpašu uzsvaru liekot uz trīskāršu negatīvu krūts vēzi. Šāda validācija ir nepieciešama, lai noteiktu to kā prognostisku vai prognozējošu biomarkieru ticamību un novērtētu to pievienoto vērtību ārpus standarta klīniski patoloģiskās klasifikācijas. Rezultāti arī norāda, ka monoalēliskā somatiskā BRCA1 inaktivācija ir bioloģiski atšķirīgs fenotips ar specifiskām transkriptomiskām izmaiņām un potenciālu prognostisko nozīmi. Tāpēc turpmākajiem pētījumiem vajadzētu pārsniegt BRCA1 statusa bināro interpretāciju un sistemātiski izpētīt daļēju BRCA1 zudumu, tā saistību ar homologiem rekombinācijas ceļiem un tā ietekmi uz ārstēšanas reakciju, jo īpaši uz DNS bojājošiem līdzekļiem un PARP inhibitoriem. Papildus tiek piedāvāta izvēlēto diferenciāli ekspresēto gēnu funkcionālā validācija, lai noskaidrotu to lomu audzēja bioloģijā un terapijas jutībā. Visbeidzot, transkriptomisko datu integrēšana ar klīniskajiem un patoloģiskajiem parametriem prospektīvos pētījumos varētu atbalstīt precīzāku pacientu stratifikāciju un atvieglot personalizētu ārstēšanas stratēģiju izstrādi krūts vēža aprūpē.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas:

1. **Kuzņecova, E.**, Daneberga, Z., Berga-Švītiņa, E., Nakazawa-Miklaševiča, M., Irmejs, A., Gardovskis, J., Miklaševičs, E. 2023. Identification of Altered Transcripts and Pathways in Triple Negative Breast Cancer. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. *Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.*, 77(1), 33–40. <https://doi.org/10.2478/prolas-2023-0004>
2. **Kuzņecova, E.**, Nakazawa-Miklasevica, M., Krike, N., Satcs, M., Sivina, E., Irmejs, A., Loza, P., Gardovskis, J., Miklasevics, E., Daneberga, Z. The Transcriptomic Profile Underlying Somatic Monoallelic *BRCAl* Inactivation: A Biomarker for Breast Cancer Prognosis. *Diagnostics*. 2025; 15(16):2037. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15162037>

Ziņojumi un tēzes:

1. **Kuzņecova, E.**, Daneberga, Z., Nakazawa-Miklaševiča, M., Berga-Švītiņa, E., Pirsko, V., Miklaševičs, E., Irmejs, A., Maksimenko, J. HER2-positive Breast Cancer Gene Expression Influenced Pathway Analysis. Poster presentation at Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”: Abstracts, 1.–3.04.2019., 60.
2. **Kuzņecova, E.**, Daneberga, Z., Nakazawa-Miklaševiča, M., Irmejs, A., Miklaševičs, E. Gene expression patterns as useful biomarkers for TNBC patients. Oral presentation at Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”: Abstracts 29.–31.03.2023.

Literatūras un avotu saraksts

1. Albergaria, A., Paredes, J., Sousa, B., Milanezi, F., Carneiro, V., Bastos, J., Costa, S., Vieira, D., Lopes, N., Lam, E. W., Lunet, N., & Schmitt, F. (2009). Expression of FOXA1 and GATA-3 in breast cancer: the prognostic significance in hormone receptor-negative tumours. *Breast Cancer Research*, *11*(3), R40. <https://doi.org/10.1186/bcr2327>
2. Al-Kabariti, A. Y., & Abbas, M. A. (2023). Progress in the Understanding of Estrogen Receptor Alpha Signaling in Triple-Negative Breast Cancer: Reactivation of Silenced ER- α and Signaling through ER- α 36. *Molecular Cancer Research*, *21*(11), 1123–1138. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0321>
3. An, X., Yu, W., Liu, J., Tang, D., Yang, L., & Chen, X. (2024). Oxidative cell death in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell Death & Disease*, *15*(8), 556. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06939-5>
4. Arakelyan, A., Melkonyan, A., Hakobyan, S., Boyarskih, U., Simonyan, A., Nersisyan, L., Nikoghosyan, M., Filipenko, M., & Binder, H. (2021). Transcriptome Patterns of BRCA1- and BRCA2- Mutated Breast and Ovarian Cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(3), 1266. <https://doi.org/10.3390/ijms22031266>
5. Arnold, M., Morgan, E., Rungay, H., Mafra, A., Singh, D., Laversanne, M., Vignat, J., Gralow, J. R., Cardoso, F., Siesling, S., & Soerjomataram, I. (2022). Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *The Breast*, *66*, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2022.08.010>
6. Asano, Y., Kashiwagi, S., Goto, W., Takada, K., Takahashi, K., Hatano, T., Noda, S., Takashima, T., Onoda, N., Tomita, S., Motomura, H., Ohsawa, M., Hirakawa, K., & Ohira, M. (2017). Prediction of survival after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer by evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden. *BMC Cancer*, *17*(1), 888. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3927-8>
7. Babar, Q., Saeed, A., Tabish, T. A., Sarwar, M., & Thorat, N. D. (2023). Targeting the tumor microenvironment: Potential strategy for cancer therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1869*(6), 166746. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2023.166746>
8. Bacha, R., Alwisi, N., Ismail, R., Pedersen, S., & Al-Mansoori, L. (2024). Unveiling GATA3 Signaling Pathways in Health and Disease: Mechanisms, Implications, and Therapeutic Potential. *Cells*, *13*(24), 2127. <https://doi.org/10.3390/cells13242127>
9. Bai, F., Zheng, C., Liu, X., Chan, H. L., Liu, S., Ma, J., Ren, S., Zhu, W.-G., & Pei, X.-H. (2022). Loss of function of GATA3 induces basal-like mammary tumors. *Theranostics*, *12*(2), 720–733. <https://doi.org/10.7150/thno.65796>
10. Baldini, E., Lauro, A., Tripodi, D., Pironi, D., Amabile, M. I., Ferent, I. C., Lori, E., Gagliardi, F., Bellini, M. I., Forte, F., Pacini, P., Cantisani, V., D'Andrea, V., Sorrenti, S., & Ulisse, S. (2022). Thyroid Diseases and Breast Cancer. *Journal of Personalized Medicine*, *12*(2), 156. <https://doi.org/10.3390/jpm12020156>
11. Bodily, W. R., Shirts, B. H., Walsh, T., Gulsuner, S., King, M.-C., Parker, A., Roosan, M., & Piccolo, S. R. (2020). Effects of germline and somatic events in candidate BRCA-like genes on breast-tumor signatures. *PLOS ONE*, *15*(9), e0239197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239197>
12. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

13. Brennan, D. J., O'Connor, D. P., Laursen, H., McGee, S. F., McCarthy, S., Zagazdzon, R., Rexhepaj, E., Culhane, A. C., Martin, F. M., Duffy, M. J., Landberg, G., Ryden, L., Hewitt, S. M., Kuhar, M. J., Bernards, R., Millikan, R. C., Crown, J. P., Jirström, K., & Gallagher, W. M. (2012). The cocaine- and amphetamine-regulated transcript mediates ligand-independent activation of ER α , and is an independent prognostic factor in node-negative breast cancer. *Oncogene*, *31*(30), 3483–3494. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.519>
14. Chen, G., Yu, M., Cao, J., Zhao, H., Dai, Y., Cong, Y., & Qiao, G. (2021). Identification of candidate biomarkers correlated with poor prognosis of breast cancer based on bioinformatics analysis. *Bioengineered*, *12*(1), 5149–5161. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1960775>
15. Chin, C.-H., Chen, S.-H., Wu, H.-H., Ho, C.-W., Ko, M.-T., & Lin, C.-Y. (2014). cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Systems Biology*, *8*(S4), S11. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-S4-S11>
16. Collins, L. C., Cole, K. S., Marotti, J. D., Hu, R., Schnitt, S. J., & Tamimi, R. M. (2011). Androgen receptor expression in breast cancer in relation to molecular phenotype: results from the Nurses' Health Study. *Modern Pathology*, *24*(7), 924–931. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.54>
17. Cortellino, S., & Longo, V. D. (2023). Metabolites and Immune Response in Tumor Microenvironments. *Cancers*, *15*(15), 3898. <https://doi.org/10.3390/cancers15153898>
18. Dai, X., Cheng, H., Chen, X., Li, T., Zhang, J., Jin, G., Cai, D., & Huang, Z. (2019). FOXA1 is Prognostic of Triple Negative Breast Cancers by Transcriptionally Suppressing *SOD2* and *IL6*. *International Journal of Biological Sciences*, *15*(5), 1030–1041. <https://doi.org/10.7150/ijbs.31009>
19. De Lara, S., Nyqvist, J., Werner Rönnerman, E., Helou, K., Kenne Sarenmalm, E., Einbeigi, Z., Karlsson, P., Parris, T. Z., & Kovács, A. (2019). The prognostic relevance of FOXA1 and Nestin expression in breast cancer metastases: a retrospective study of 164 cases during a 10-year period (2004–2014). *BMC Cancer*, *19*(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5373-2>
20. Dent, R., Trudeau, M., Pritchard, K. I., Hanna, W. M., Kahn, H. K., Sawka, C. A., Lickley, L. A., Rawlinson, E., Sun, P., & Narod, S. A. (2007). Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Features and Patterns of Recurrence. *Clinical Cancer Research*, *13*(15), 4429–4434. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-3045>
21. Dustin, D., Gu, G., & Fuqua, S. A. W. (2019). *ESR1* mutations in breast cancer. *Cancer*, *125*(21), 3714–3728. <https://doi.org/10.1002/cncr.32345>
22. Elnagdy, M. H., Farouk, O., Seleem, A. K., & Nada, H. A. (2018). *TFF1* and *TFF3* mRNAs Are Higher in Blood from Breast Cancer Patients with Metastatic Disease than Those without. *Journal of Oncology*, *2018*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/4793498>
23. Fan, K. Y., Chehade, R., Qazi, M., Moravan, V., Nofech-Mozes, S., & Jerzak, K. J. (2023). Androgen Receptor Is Expressed in the Majority of Breast Cancer Brain Metastases and Is Subtype-Dependent. *Cancers*, *15*(10), 2748. <https://doi.org/10.3390/cancers15102748>
24. Furuhashi, M., Saitoh, S., Shimamoto, K., & Miura, T. (2014). Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological Insights and Potent Clinical Biomarker of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*, *8s3*, CMC.S17067. <https://doi.org/10.4137/CMC.S17067>
25. Garcia-Martinez, L., Zhang, Y., Nakata, Y., Chan, H. L., & Morey, L. (2021). Epigenetic mechanisms in breast cancer therapy and resistance. *Nature Communications*, *12*(1), 1786. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22024-3>
26. Garrido-Castro, A. C., Lin, N. U., & Polyak, K. (2019). Insights into Molecular Classifications of Triple-Negative Breast Cancer: Improving Patient Selection for Treatment. *Cancer Discovery*, *9*(2), 176–198. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1177>
27. Gerratana, L., Basile, D., Buono, G., De Placido, S., Giuliano, M., Minichillo, S., Coinu, A., Martorana, F., De Santo, I., Del Mastro, L., De Laurentiis, M., Puglisi, F., & Arpino, G. (2018). Androgen receptor in triple negative breast cancer: A potential target for the targetless subtype. *Cancer Treatment Reviews*, *68*, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.06.005>

28. Giovannella, L., Marelli, M., Ceriani, L., Giardina, G., Garancini, S., & Colombo, L. (2001). Evaluation of Chromogranin a Expression in Serum and Tissues of Breast Cancer Patients. *The International Journal of Biological Markers*, *16*(4), 268–272. <https://doi.org/10.1177/172460080101600408>
29. Gonzalez-Avila, G., Sommer, B., Mendoza-Posada, D. A., Ramos, C., Garcia-Hernandez, A. A., & Falfan-Valencia, R. (2019). Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *137*, 57–83. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.02.010>
30. Govindan, S., Siraganahalli Eswaraiyah, M., Basavaraj, C., Adinarayan, M., Sankaran, S., & Bakre, M. (2020). Androgen Receptor mRNA levels determine the prognosis in triple-negative breast cancer patients. *BMC Cancer*, *20*(1), 745. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07218-0>
31. Guijarro, L. G., Justo Bermejo, F. J., Boaru, D. L., De Castro-Martinez, P., De Leon-Oliva, D., Fraile-Martínez, O., Garcia-Montero, C., Alvarez-Mon, M., Toledo-Lobo, M. del V., & Ortega, M. A. (2023a). Is Insulin Receptor Substrate4 (IRS4) a Platform Involved in the Activation of Several Oncogenes? *Cancers*, *15*(18), 4651. <https://doi.org/10.3390/cancers15184651>
32. Haffty, B. G., Yang, Q., Reiss, M., Kearney, T., Higgins, S. A., Weidhaas, J., Harris, L., Hait, W., & Toppmeyer, D. (2006). Locoregional Relapse and Distant Metastasis in Conservatively Managed Triple Negative Early-Stage Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *24*(36), 5652–5657. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.5664>
33. Hao, J., Yan, F., Zhang, Y., Triplett, A., Zhang, Y., Schultz, D. A., Sun, Y., Zeng, J., Silverstein, K. A. T., Zheng, Q., Bernlohr, D. A., Cleary, M. P., Egilmez, N. K., Sauter, E., Liu, S., Suttles, J., & Li, B. (2018). Expression of Adipocyte/Macrophage Fatty Acid-Binding Protein in Tumor-Associated Macrophages Promotes Breast Cancer Progression. *Cancer Research*, *78*(9), 2343–2355. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2465>
34. Hong, M., Tao, S., Zhang, L., Diao, L.-T., Huang, X., Huang, S., Xie, S.-J., Xiao, Z.-D., & Zhang, H. (2020). RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1), 166. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-01005-x>
35. Hu, H., Tong, K., Tsang, J. Y., Ko, C. W., Tam, F., Loong, T. C., & Tse, G. M. (2024). Subtyping of triple-negative breast cancers: its prognostication and implications in diagnosis of breast origin. *ESMO Open*, *9*(4), 102993. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2024.102993>
36. Huang, H. (2018). Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors*, *18*(10), 3249. <https://doi.org/10.3390/s18103249>
37. Hwang, K.-T., Kim, J., Jung, J., Chang, J. H., Chai, Y. J., Oh, S. W., Oh, S., Kim, Y. A., Park, S. B., & Hwang, K. R. (2019). Impact of Breast Cancer Subtypes on Prognosis of Women with Operable Invasive Breast Cancer: A Population-based Study Using SEER Database. *Clinical Cancer Research*, *25*(6), 1970–1979. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-2782>
38. Iamaroon, A., Pongsiriwet, S., Jittidecharaks, S., Pattanaporn, K., Prapayatatok, S., & Wanachantararak, S. (2003). Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, *32*(4), 195–199. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2003.00128.x>
39. Ikink, G. J., Boer, M., Bakker, E. R. M., & Hilkens, J. (2016). IRS4 induces mammary tumorigenesis and confers resistance to HER2-targeted therapy through constitutive PI3K/AKT-pathway hyperactivation. *Nature Communications*, *7*(1), 13567. <https://doi.org/10.1038/ncomms13567>
40. Kankkunen, J.-P., Harvima, I. T., & Naukkarinen, A. (1997). Quantitative analysis of tryptase and chymase containing mast cells in benign and malignant breast lesions. *International Journal of Cancer*, *72*(3), 385–388. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19970729\)72:3<385::AID-IJC1>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970729)72:3<385::AID-IJC1>3.0.CO;2-L)

41. Kast, K., John, E. M., Hopper, J. L., Andrieu, N., Noguès, C., Mouret-Fourme, E., Lasset, C., Fricker, J.-P., Berthet, P., Mari, V., Salle, L., Schmidt, M. K., Ausems, M. G. E. M., Garcia, E. B. G., van de Beek, I., Wevers, M. R., Evans, D. G., Tischkowitz, M., Lalloo, F., ... Engel, C. (2023). Associations of height, body mass index, and weight gain with breast cancer risk in carriers of a pathogenic variant in BRCA1 or BRCA2: the BRCA1 and BRCA2 Cohort Consortium. *Breast Cancer Research*, 25(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13058-023-01673-w>
42. Kesson, E. M., Allardice, G. M., George, W. D., Burns, H. J. G., & Morrison, D. S. (2012). Effects of multidisciplinary team working on breast cancer survival: retrospective, comparative, interventional cohort study of 13 722 women. *BMJ*, 344(apr26 1), e2718–e2718. <https://doi.org/10.1136/bmj.e2718>
43. Kim, S., Moon, B.-I., Lim, W., Park, S., Cho, M. S., & Sung, S. H. (2016). Expression patterns of GATA3 and the androgen receptor are strongly correlated in patients with triple-negative breast cancer. *Human Pathology*, 55, 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2016.04.013>
44. Kudelova, E., Smolar, M., Holubekova, V., Hornakova, A., Dvorska, D., Lucansky, V., Koklesova, L., Kudela, E., & Kubatka, P. (2022). Genetic Heterogeneity, Tumor Microenvironment and Immunotherapy in Triple-Negative Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14937. <https://doi.org/10.3390/ijms232314937>
45. Kumar, U., Ardasheva, A., Mahmud, Z., Coombes, R. C., & Yagüe, E. (2021). FOXA1 is a determinant of drug resistance in breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 186(2), 317–326. <https://doi.org/10.1007/s10549-020-06068-5>
46. Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y., & Pietenpol, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal of Clinical Investigation*, 121(7), 2750–2767. <https://doi.org/10.1172/JCI45014>
47. Lehmann, B. D., Jovanović, B., Chen, X., Estrada, M. V., Johnson, K. N., Shyr, Y., Moses, H. L., Sanders, M. E., & Pietenpol, J. A. (2016). Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLOS ONE*, 11(6), e0157368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157368>
48. Leifler, K. S., Svensson, S., Abrahamsson, A., Bendrik, C., Robertson, J., Gauldie, J., Olsson, A.-K., & Dabrosin, C. (2013). Inflammation Induced by MMP-9 Enhances Tumor Regression of Experimental Breast Cancer. *The Journal of Immunology*, 190(8), 4420–4430. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202610>
49. Li, Y., Zhan, Z., Yin, X., Fu, S., & Deng, X. (2021). Targeted Therapeutic Strategies for Triple-Negative Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.731535>
50. Liu, S., Wu, D., Fan, Z., Yang, J., Li, Y., Meng, Y., Gao, C., & Zhan, H. (2022). FABP4 in obesity-associated carcinogenesis: Novel insights into mechanisms and therapeutic implications. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.973955>
51. Loboda, A. P., Adonin, L. S., Zvereva, S. D., Guschin, D. Y., Korneenko, T. V., Telegina, A. V., Kondratieva, O. K., Frolova, S. E., Pestov, N. B., & Barlev, N. A. (2023). BRCA Mutations – The Achilles Heel of Breast, Ovarian and Other Epithelial Cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4982. <https://doi.org/10.3390/ijms24054982>
52. Lopez, M., Spohner, L., André, F., Viot, J., Seffar, E., Marguier, A., Curtit, E., Meynard, G., Dobi, E., Ladoire, S., Boidot, R., Loyon, R., Derangere, V., Bidard, F.-C., Borg, C., Mansi, L., & Kroemer, M. (2025). Exploring the role of ESR1 mutations in metastatic hormone receptor-positive breast cancer T cell immune surveillance disruption. *Breast Cancer Research*, 27(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13058-025-01962-6>
53. Metovic, J., Borella, F., D’Alonzo, M., Biglia, N., Mangherini, L., Tampieri, C., Bertero, L., Cassoni, P., & Castellano, I. (2022a). FOXA1 in Breast Cancer: A Luminal Marker with Promising Prognostic and Predictive Impact. *Cancers*, 14(19), 4699. <https://doi.org/10.3390/cancers14194699>

54. Miziak, P., Baran, M., Błaszczak, E., Przybyszewska-Podstawka, A., Kałafut, J., Smok-Kalwat, J., Dmoszyńska-Graniczka, M., Kielbus, M., & Stepulak, A. (2023). Estrogen Receptor Signaling in Breast Cancer. *Cancers*, *15*(19), 4689. <https://doi.org/10.3390/cancers15194689>
55. Mohammed, A. A., Elsayed, F. M., Algazar, M., Rashed, H. E., & Anter, A. H. (2020). Neoadjuvant Chemotherapy in Triple Negative Breast Cancer: Correlation between Androgen Receptor Expression and Pathological Response. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *21*(2), 563–568. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.2.563>
56. Owe-Larsson, M., Pawłasek, J., Piecha, T., Sztokfisz-Ignasiak, A., Pater, M., & Janiuk, I. R. (2023). The Role of Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript (CART) in Cancer: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(12), 9986. <https://doi.org/10.3390/ijms24129986>
57. Popova, N. V., & Jücker, M. (2022). The Functional Role of Extracellular Matrix Proteins in Cancer. *Cancers*, *14*(1), 238. <https://doi.org/10.3390/cancers14010238>
58. Prakash, R., Zhang, Y., Feng, W., & Jasin, M. (2015). Homologous Recombination and Human Health: The Roles of BRCA1, BRCA2, and Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(4), a016600. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016600>
59. Qiong, L., & Yin, J. (2021). Orosomucoid 1 promotes epirubicin resistance in breast cancer by upregulating the expression of matrix metalloproteinases 2 and 9. *Bioengineered*, *12*(1), 8822–8832. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1987067>
60. Querzoli, P., Pedriali, M., Rinaldi, R., Secchiero, P., Rossi, P. G., & Kuhn, E. (2021a). GATA3 as an Adjunct Prognostic Factor in Breast Cancer Patients with Less Aggressive Disease: A Study with a Review of the Literature. *Diagnostics*, *11*(4), 604. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11040604>
61. Rosati, D., Palmieri, M., Brunelli, G., Morrione, A., Iannelli, F., Frullanti, E., & Giordano, A. (2024). Differential gene expression analysis pipelines and bioinformatic tools for the identification of specific biomarkers: A review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *23*, 1154–1168. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2024.02.018>
62. Shah, S. P., Roth, A., Goya, R., Oloumi, A., Ha, G., Zhao, Y., Turashvili, G., Ding, J., Tse, K., Haffari, G., Bashashati, A., Prentice, L. M., Khattra, J., Burleigh, A., Yap, D., Bernard, V., McPherson, A., Shumansky, K., Crisan, A., ... Aparicio, S. (2012). The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature*, *486*(7403), 395–399. <https://doi.org/10.1038/nature10933>
63. Shen, M., Pan, H., Chen, Y., Xu, Y. H., Yang, W., & Wu, Z. (2020). A review of current progress in triple-negative breast cancer therapy. *Open Medicine*, *15*(1), 1143–1149. <https://doi.org/10.1515/med-2020-0138>
64. Sobiepanek, A., Kuryk, Ł., Garofalo, M., Kumar, S., Baran, J., Musolf, P., Siebenhaar, F., Fluhr, J. W., Kobiela, T., Plasenzotti, R., Kuchler, K., & Staniszewska, M. (2022). The Multifaceted Roles of Mast Cells in Immune Homeostasis, Infections and Cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(4), 2249. <https://doi.org/10.3390/ijms23042249>
65. Sridhar, N., Iwase, T., Xie, X., Lee, J., Damodaran, S., & Ueno, N. T. (2025). Paving the path ForwARd: Advances and challenges in androgen receptor targeting in breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*, *138*, 102958. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2025.102958>
66. Sun, N., & Zhao, X. (2022a). Therapeutic Implications of FABP4 in Cancer: An Emerging Target to Tackle Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.948610>
67. Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N. T., Morris, J. H., Bork, P., Jensen, L. J., & Mering, C. von. (2019a). STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*, *47*(D1), D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>

68. Trubacova, R., Drastichova, Z., & Novotny, J. (2022). Biochemical and physiological insights into TRH receptor-mediated signaling. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.981452>
69. Vera-Badillo, F. E., Templeton, A. J., de Gouveia, P., Diaz-Padilla, I., Bedard, P. L., Al-Mubarak, M., Seruga, B., Tannock, I. F., Ocana, A., & Amir, E. (2014). Androgen Receptor Expression and Outcomes in Early Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 106(1), djt319–djt319. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt319>
70. Vtorushin, S., Dulesova, A., & Krakhmal, N. (2022). Luminal androgen receptor (LAR) subtype of triple-negative breast cancer: molecular, morphological, and clinical features. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 23(8), 617–624. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2200113>
71. Wang, Q., Wang, K., Tan, X., Li, Z., & Wang, H. (2022). Immunomodulatory role of metalloproteases in cancers: Current progress and future trends. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1064033>
72. Weisbrod, A. B., Zhang, L., Jain, M., Barak, S., Quezado, M. M., & Kebebew, E. (2013). Altered PTEN, ATRX, CHGA, CHGB, and TP53 Expression Are Associated with Aggressive VHL-Associated Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Hormones and Cancer*, 4(3), 165–175. <https://doi.org/10.1007/s12672-013-0134-1>
73. Wells, J. M., Gaggar, A., & Blalock, J. E. (2015). MMP generated matrikines. *Matrix Biology*, 44–46, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.016>
74. Winkler, J., Abisoye-Ogunniyan, A., Metcalf, K. J., & Werb, Z. (2020). Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis. *Nature Communications*, 11(1), 5120. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18794-x>
75. Wroblewski, M., Bauer, R., Cubas Córdova, M., Udonta, F., Ben-Batalla, I., Legler, K., Hauser, C., Egberts, J., Janning, M., Velthaus, J., Schulze, C., Pantel, K., Bokemeyer, C., & Loges, S. (2017). Mast cells decrease efficacy of anti-angiogenic therapy by secreting matrix-degrading granzyme B. *Nature Communications*, 8(1), 269. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00327-8>
76. Yang, Y., Lu, S., Zeng, W., Xie, S., & Xiao, S. (2017). GATA3 expression in clinically useful groups of breast carcinoma: a comparison with GCDFP15 and mammaglobin for identifying paired primary and metastatic tumors. *Annals of Diagnostic Pathology*, 26, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2016.09.011>
77. Yi, J., Ren, L., Li, D., Wu, J., Li, W., Du, G., & Wang, J. (2020). Trefoil factor 1 (TFF1) is a potential prognostic biomarker with functional significance in breast cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 124, 109827. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109827>
78. Yoon, E. C., Wang, G., Parkinson, B., Huo, L., Peng, Y., Wang, J., Salisbury, T., Wu, Y., Chen, H., Albarracin, C. T., Resetskova, E., Middleton, L. P., Krishnamurthy, S., Gan, Q., Sun, H., Huang, X., Shen, T., Chen, W., Parwani, A. V., ... Ding, Q. (2022). TRPS1, GATA3, and SOX10 expression in triple-negative breast carcinoma. *Human Pathology*, 125, 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2022.04.006>
79. Yu, T., & Di, G. (2017). Role of tumor microenvironment in triple-negative breast cancer and its prognostic significance. *Chinese Journal of Cancer Research*, 29(3), 237–252. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2017.03.10>
80. Zhao, Y., Simon, M., Seluanov, A., & Gorbunova, V. (2023). DNA damage and repair in age-related inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 23(2), 75–89. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00751-y>

Pateicības

Vispirms vēlos izteikt sirsnīgu pateicību savām zinātniskajām vadītājām **Zandai Danebergai** un **Miki Nakazawai-Miklaševiĉai** par viņu nenovērtējamo vadību un atbalstu doktorantūras studiju laikā. Esmu pateicīga **Edvīnam Miklaševiĉam** par doto iespēju uzsākt doktorantūras studijas un par sākotnējās pētījuma koncepcijas izstrādi, kas kalpoja par pamatu šim darbam. Īpašu pateicību vēlos izteikt **Zandai Danebergai** par atklātību, uzticēšanos un nepārtrauktu mentorēšanu, kā arī par pacietīgu un mērķtiecīgu vadību visos pētījuma posmos. Bez šī atbalsta, zināšanām un iedrošinājuma nebūtu iespējams veiksmīgi īstenot un pabeigt šo disertāciju.

Izsaku pateicību Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Krūts ķirurģijas nodaļai par nozīmīgo ieguldījumu pacientu materiālu vākšanā un paraugu atlasē, kas bija ārkārtīgi svarīgi šī pētījuma īstenošanai.

Sirsnīgs paldies šī darba recenzentei **Dacei Pjanovai** par rūpīgo darba izvērtējumu, vērtīgajiem komentāriem un konstruktīvajiem ieteikumiem, kas būtiski veicināja darba kvalitātes uzlabošanu.

Tāpat izsaku pateicību visiem promocijas darba apspriešanas komisijas locekļiem par ieguldīto laiku, sniegto novērtējumu un pārdomājamiem ieteikumiem. Pateicos arī Rīgas Stradiņa universitātes Onkoloģijas un molekulārās ģenētikas institūtam par atbalstu, sadarbību un profesionālajiem padomiem doktorantūras studiju laikā.

Visbeidzot, esmu dziļi pateicīga savai ģimenei par ilgstošo atbalstu un ticību. Īpašu pateicību vēlos izteikt savam vīram par pacietību, sapratni un pastāvīgo iedrošinājumu šajā izaicinošajā ceļā. Pateicos ikvienam, kurš mani atbalstījis – jūsu ieguldījums ir bijis nozīmīgs gan manā akadēmiskajā attīstībā, gan personīgajā izaugsmē.